

THESIS

MUNICH

1966

UNTERSUCHUNGEN
ÜBER DIE BINDUNGSKAPAZITÄT
DES CORTISOLBINDENDEN GLOBULINS
IM PLASMA DES MENSCHEN

Peter Eberhard von Rottkay

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE BINDUNGSKAPAZITÄT
DES CORTISOLBINDENDEN GLOBULINS IM PLASMA DES MENSCHEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Peter Eberhard von Rottkay
aus Breslau

München 1966

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent:	PD Dr. HJ. KARL
Correferent:	Professor Dr. H. SCHWIEGK
Dekan:	Professor Dr. M. KIESE

Tag der mündlichen Prüfung: 4. 10. 1966

MEINEN ELTERN GEWIDMET

INHALTSVERZEICHNIS

- A) Einführung
- B) Literaturübersicht
- C) Eigene Untersuchungen
 - 1) Material und Methodik
 - 2) Ergebnisse
- D) Diskussion
- E) Zusammenfassung
- F) Literatur

A) EINLEITUNG

Die Steroid-Hormone sind bekanntlich im Blut an Eiweiß "gebunden". Dabei wird unter Bindung jedes Hatten, auch ein noch so lockeres am kolloidalen Eiweißteilchen verstanden, denn Näheres ist über die chemische Natur dieser Bindung nicht bekannt. Die Steroide sind nicht fest an Eiweiß gebunden, sondern können durch die üblichen Extraktionsverfahren mit organischen Lösungsmitteln vom Träger-eiweiß abgetrennt werden. In der Arbeit wird der Ausdruck "gebundenes bzw. freies Cortisol" für die Anlagerung an Eiweiß gebraucht, die Verknüpfung mit Glucosonsäure immer als Konjugation bezeichnet.

B) LITERATURÜBERSICHT

Eine kurze Literaturübersicht soll die wesentlichen bisher vorliegenden Befunde über die Cortisolbindung an Eiweiß aufführen.

S. ROBERTS und C. M. SZEGO (76) fanden 1946 in Dialyserversuchen, daß etwa $\frac{2}{3}$ des zirkulierenden Östrogens dialysabel an die III-O-Fraktion (Lipoproteine) gebunden sind. BISCHOFF und STAUFFER (6) hingegen und andere Untersucher (72, 82) fanden, daß die Östrogene ganz überwiegend an die Albumine angelagert sind. 1948 beobachteten BISCHOFF und PILHORN (5) in vitro, daß Testosteron sowie Progesteron in größerer Konzentration in Rinderalbumin als in NaCl löslich ist und folgerten daraus, daß auch in vivo 70 % des Testosterons und 90 % des Progesterons an Albumin gebunden seien. 1952 fanden BISCHOFF und KATHERMANN (4) die Löslichkeit des Östrons in menschlichem Serum etwa 100-mal so groß wie in neutralem Puffer, ein weiterer Hinweis auf Eiweiß-Bindung. Eine systematische Untersuchung der Löslichkeit einiger Steroide wurden von EIK-NES, LUMRY und SCHELLMANN (75) 1954 durchgeführt. Am stärksten waren Östradiol, 4-androstan-3-on und androstan-17-on an Rinderalbumin gebunden. Sie lösten sich etwa 400-mal besser in 5 %-igen Albumin als in neutralem Puffer. Die Affinität des Cortisols zum Albumin war niedrig (Löslichkeit 2 bis 3-mal besser in Albumin als in neutralem Puffer). Die anderen biologisch interessanten Steroide lagen mit ihrer Löslichkeit zwischen diesen beiden Extremen. Die Stärke der Steroid-Eiweiß-Bindung stieg mit abnehmender Zahl polarer Gruppen an. SCHELLMANN, LUMRY und SAMUELS (74) konnten bei Untersuchungen über die Bindung von Testosteron an Rinderalbumin eine lineare Beziehung zwischen dem reziproken Wert der Durchschnittszahl gebundener Steroidmoleküle pro Proteinmolekül und dem reziproken Wert der Substratkonzentration aufstellen. Die Bindung von Testosteron nahm mit ansteigender Temperatur zu und wurde durch

Thiocyanat, Methylorange und Zink gehemmt. Diese Löslichkeitsexperimente erforderten einen hohen Zeitaufwand und große Mengen von Steroiden.

Die von DAUGHADAY (16) 1955 eingeführte Gleichgewichts-Dialyse brachte einen großen methodischen Fortschritt. Es ergab sich, daß die 17-OH-Corticosteroide in viel stärkerem Maße an Plasma gebunden sind als die 17-OH-Corticosteroid-Glucuronide. Aus den Untersuchungen ging auch hervor, daß die renale Clearance bei nicht konjugierten 17-OH-Corticosteroiden viel niedriger war als bei konjugierten. Aus diesen Befunden konnte geschlossen werden, daß die 17-OH-Corticosteroide nur glomerulär filtriert, die Glucuronide hingegen auch tubulär sezerniert werden. WESTPHAL (13, 14) fand die Steroidbindungskapazität des Albumins für Progesteron und Cortison etwa 100 bis 1000-mal höher als die physiologische Konzentration der beiden Steroide. In der Papierelektrophorese werden Progesteron und Cortisol hauptsächlich in der Albuminfraktion gefunden. 1956 fand DAUGHADAY (15) bei Dialysierexperimenten bei + Grad Celsius (unverdünntes Plasma gegen Puffer), daß etwa 94 % der unkonjugierten und 65 % des konjugierten Cortisols lose an Plasmaproteine gekoppelt sind. Das meiste Steroid ließ sich in den Fraktionen IV-4 und V nachweisen, wo auch ANTONIADES u. a. (2) 1957 intravenös injizierte Steroide wiederfand. Angesichts der groben chemischen Nachweismethoden mußten alle Untersucher bis 1957 mit unphysiologischen Mengen von Steroiden arbeiten.

Entscheidend war die Verwendung radioaktiver Steroide durch DAUGHADAY 1957 (19, 20). Dieser Fortschritt der Untersuchungsmethode ermöglichte es mit physiologischen Mengen Cortisols auszukommen. DAUGHADAY konnte mit Hilfe von Gleichgewichtsdialysen zwei Cortisol bindende Systeme differenzieren, eines mit großer Kapazität und niedriger Affinität, das andere mit hoher Affinität und niedriger Kapazität. Das System mit großer Kapazität und niedriger Affinität war für die Bindung des größten Teils des Cortisols bei unphysiologisch hoher Konzentration verantwortlich. Das System mit hoher Affinität und niedriger Kapazität stellte dagegen den Hauptteil der Bindung des Cortisols bei physiologischer Konzentration. Die vorausgegangenen Experimente erlaubten den Schluß, daß das System mit hoher Kapazität und niedriger Affinität mit den Albuminen identisch sei. Das andere System mit hoher Affinität und niedriger Kapazität erwies sich in der Papierelektrophorese als ein α_2 -Globulin. In der Dialyse gegen einzelne Plasmafraktionen war das 4-C₁₄-Cortisol bei Verwendung physiologischer Konzentration in der Plasmafraktion IV-4 nachzuweisen. Offenbar ist also bei physiologischen Cortisolspiegeln der größte Teil des Steroids an das System mit kleiner Kapazität gebunden, das DAUGHADAY Cortisol bindendes Globulin nannte.

In Untersuchungen an Patienten fand DAUGHADAY eine herabgesetzte Bindung von Cortisol an das Cortisol bindende Globulin bei verschiedenen Dysproteinämien,

z. B. Leberzirrhosen, nephrotischem Syndrom und multiplem Myelom. Bei Patienten mit endokrinen Erkrankungen verhielt sich die Bindung des Cortisols an Globulin unauffällig (19, 20). Eine Beziehung zwischen Cholesteringehalt und der Menge des Cortisol bindenden Globulins im Serum konnte nicht festgestellt werden. In einer anderen Untersuchung (22) konnte DAUGHADAY bei normalen Versuchspersonen einen Anteil des ungebundenen Cortisols am Gesamt-Cortisol von 1,1 % bestimmen. In verschiedenen Körperflüssigkeiten (ductus thoracicus-Lymph, Pleuraerguß) war der Gehalt an Cortisol bindendem Globulin niedriger. Weiter stellte DAUGHADAY fest (21), daß Fraktion IV-4 viel geringere Affinität zu Progesteron, Testosteron, Östron und Östradiol als zu Cortisol besitzt. SANDBERG und SLAUNWHITE (70, 81) benutzten im äußeren Abteil des Dialysiersystems 1 %-iges menschliches Albumin und konnten damit eindeutig eine Bindung des Cortisols nachweisen, die nicht dem Albumin im Plasma zuzuschreiben war. Auf diese Weise ergab sich, daß das Cortisol bindende Globulin, welches SANDBERG und SLAUNWHITE in Analogie zum Transferrin Transcortin nannten, bei Neugeborenen niedrig war, normal bei Patienten mit Leberzirrhose, nicht wesentlich gesenkt bei Patienten mit nephrotischem Syndrom und multiplem Myelom. Stark erhöht war die Bindung des Cortisols an das Cortisol bindende Globulin bei Patienten, die vorher Östrogene verabreicht bekommen hatten. 1961 fand DAUGHADAY (26) eine erhöhte Cortisolbindung bei Schwangeren nur, falls die Dialyse bei 37°C durchgeführt wurde, nicht aber bei 4°C und nahm deshalb ein zweites qualitativ verschiedenes System an, das für die erhöhte Cortisol-Bindung an Globulin bei Schwangeren verantwortlich zu machen sei. Zu einem ähnlichen Schluß kamen 1962 M. BOOTH und Mitarb. (7), die mit der Technik von SANDBERG und SLAUNWHITE bei schwangeren Frauen eine höhere Cortisol-Bindung als bei gesunden Frauen nachweisen konnten. Diese erhöhte Cortisol-Bindung war auf ein System mit einer anderen Gleichgewichtskonstante zurückzuführen. Aufgrund der Beobachtung, daß das Cortisol bindende Globulin hitzelabil und durch 20-minütiges Erhitzen auf 60°C zu inaktivieren ist, entwickelte DAUGHADAY (28) eine Methode zur Bestimmung der Kapazität des Cortisols bindenden Globulins. Durch dieses Verfahren ergab sich bei gesunden Versuchspersonen eine Kapazität des Cortisol bindenden Globulins von $20,1 \pm 5,2 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$, bei graviden und oöstrophenbehandelten Patienten $30 - 128 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$, bei einem Kranken mit multiplem Myelom $35 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$, bei einem Diabetes $9 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ bei einem AGS $28 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ und $9 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$. MURPHY und PATTEE (58) bestimmten auf rechnerischem Wege die Kapazität des Cortisol bindenden Globulins und fanden Normalwerte von $30,9 \pm 4,5 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ bei Männern, $31,8 \pm 5,5 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ bei Frauen, $33,5 \pm 6,8 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ bei einem gemischten Krankengut und Werte von 14 bis $21 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ bei Leberzirrhose.

Im Tierversuch konnte WESTPHAL (100, 101) bei adrenal- und hypophysenaktomier-

ten Ratten eine erhöhte Aktivität des Cortisol bindenden Globulins nachweisen zusammen mit einer Erhöhung der Alphaglobuline.

SLAUNWHITE und SANDBERG (32) zeigten in Dialysierexperimenten (Plasma gegen Albumin), daß die meisten unkonjugierten Steroide an Albumin angelagert sind und die Bindung für jedes Steroid in individueller Weise von 5 nach 25°C abnimmt. Verdrängung d.h. Herabminderung der gebundenen Menge eines Steroids durch Zusatz eines anderen Steroids konnte nur zwischen Cortisol und Corticosteron aufgedeckt werden.

Eine andere Gruppe von Untersuchern wies das Cortisol bindende Globulin mittels Ultrafiltration nach. JPTON und BONDY (36) sahen 1958, daß bei einem Plasma-17-OH-Corticosteroidsiegel niedriger als 30 γ /100 ml kein Cortisol ultrafiltrabel war und von 40 γ /100 ml aufwärts etwa 15 %. Dieser Befund ist ein weiterer Hinweis auf die beiden verschiedenen Cortisol bindenden Systeme. 1960 fand KARL (43), ebenfalls durch Ultrafiltration, daß sich parenteral zugeführtes Prednisolon ähnlich verhält wie endogenes Cortisol. Von nicht konjugiertem Prednisolon waren 70 bis 80 % an Plasma gebunden, von Glucuronid-konjugiertem nur 60 bis 65 %. Der ultrafiltrable Anteil betrug bis 20 γ /100 ml 3 %, ab 30 bis 40 γ /100 ml 22 bis 26 % und blieb gleich bis 200 γ /100 ml. MILLS (53) fand bei Ultrafiltration ebenso wie SANDBERG (71) eine Erhöhung der Cortisol-Bindung an Globulin nach Östrogen-Verabreichung. Letzterer fand auch eine Erniedrigung nach ACTH-Gabe, nach chirurgischem Stress und in Lymphflußigkeiten. DE MOOR (55, 56) fand durch Ultrafiltration eine Kapazität des Cortisols bindenden Globulins von $25.9 \pm 3.5 \%$ /100 ml bei normalen Versuchspersonen, niedrige Werte in Nabelschnurblut, bei Hypoproteinaemien, bei Patienten, die mit hohen Steroid-Dosen behandelt worden waren und in einigen Fällen von unkomplizierter Fettleber, hohe Werte fand er bei Lebererkrankungen, Lungentuberkulose und nach Östrogen-Behandlung.

Über das Verhalten der Bindung von Cortisol an Globulin bei Patienten mit verschiedenen Erkrankungen finden sich zusammenfassend folgende Angaben in der Literatur:

DAYGHADAY (19, 20) fand mittels Gleichgewichtsdialyse erniedrigte Werte bei Leberzirrhosikern, bei Kranken mit nephrotischem Syndrom und multiplem Myelom. SANDBERG und SLAUNWHITE (81) konnten mit ihrer Modifikation der Gleichgewichtsdialyse bei Leberzirrhosikern keine auffälligen Werte feststellen, auch wesentlich gesenkte Werte bei nephrotischem Syndrom und Myelom.

Durch Ultrafiltration ermittelten DE MOOR und Mitarb. (55, 56) erniedrigte Werte bei Hypoproteinaemien sowie einigen Fällen "unkomplizierter" Fettleber.

Der einzig konstante und gesicherte Befund bei verschiedenen Autoren war die

Erhöhung der Bindung von Cortisol an Globulin in der Schwangerschaft und nach Östrogenverabreichung (46, 7, 53, 70, 71, 81).

Über die Bedeutung dieser Befunde bei den genannten Zuständen herrscht noch keine Klarheit. Offen bleibt ferner die Frage nach der physiologischen Bedeutung des Cortisol bindenden Globulins.

Zur weiteren Erhellung dieser Fragen sind weitere Untersuchungen notwendig.

In dieser Arbeit wird deshalb die Cortisol-Bindung an Globulin bei Patienten mit Adipositas, Hypertonie und verschiedenen Nierenerkrankungen mittels der Methode der Gleichgewichtsdialyse untersucht.

Besonderes Interesse verdiente

die Untersuchung des Cortisol bindenden Globulins an Adipösen, da für dieses Krankheitsbild eine zugrundeliegende hormonale Fehlregulation bisher noch nicht bewiesen werden konnte und ein abnormer humeraler Befund einen Schritt vorwärts auf dem Weg zur Aufklärung der Pathogenese und Ätiologie bedeuten könnte.

C) VERSUCHSMATERIAL UND METHODIK

a) MATERIAL

1. Isotonische NaCl-Lösung (0,9 %).
2. Humanalbumin reinst (Firma Behring-Werke). Das Humanalbumin wurde bei +4°C aufbewahrt. Vor Gebrauch wurde 1 g in 100 ml isotonischer NaCl-Lösung unter Zusatz von 50 000 I.E. Penicillin G (Firma Hoechst) aufgelöst.
3. 4-C¹⁴-Cortisol. Reinheit 96,5 %.
Folgende Stammlösungen in absolutem Alkohol wurden benützt:
 - a) 0,1 μ C/ml = 4,6 μ C, spezifische Aktivität 7,83 mC/mMol. Als Zusatz dienten 0,05 ml entsprechend 0,23 Cortisol.
 - b) 0,1 μ C/ml = 1,5 μ C, spezifische Aktivität 24,18 mC/mMol. Als Zusatz zur Dialyse wurden 0,05 ml genommen entsprechend 0,075 μ C Cortisol.
4. Reines Cortisol (Firma Schering Berlin). Das Cortisol wurde im Exsiccator über Blaugel (Firma Merck Darmstadt) getrocknet. Die Konzentration der Stammlösung betrug 10 μ C/ml in absolutem Alkohol.
5. Dialysierschläuche (Firma Kalle) Durchmesser 16 mm.

b) METHODIK

I) Gewinnung des Serums:

Zwischen 9 und 10 Uhr vormittags wurde den nüchternen gesunden Personen und Patienten durch Venenpunktion Blut abgenommen. Anschliessend wurde das Blut sofort zentrifugiert und das Serum abpipettiert. Erfolgte der Versuchsansatz nicht sofort, so wurde das Serum bei -4°C eingefroren und erst unmittelbar vor Gebrauch wieder aufgetaut.

II) Durchführung der Dialyse:

1. Äußeres Dialysierabteil:

In ein 50 ml-Zentrifugengläschen wurde zunächst der in Alkohol gelöste Zusatz $4\text{-C}^{14}\text{-Cortisol}$ ($0,23\gamma$ bzw. $0,075\gamma$) oder je nach Versuchsanordnung auch nicht radioaktiv markiertes Cortisol eingebracht. Der Alkohol wurde sodann schonend bei Unterdruck abgedampft. In das Gläschen wurden anschliessend 15 ml 1 %-ige Albuminlösung einpipettiert und dadurch das radioaktive Steroid gelöst.

2. Inneres Dialysierabteil:

Ein etwa 20 cm langer Schlauchabschnitt wurde in Aq. dest. eingeweicht, um ihn geschmeidig zu machen. Anschliessend wurde der Schlauch an dem einen Ende mit einem Doppelknoten verschlossen, dann mit 1 ml Serum und 4 ml isotonischer NaCl-Lösung beschickt und am oberen Ende mit einem weiteren Doppelknoten verschlossen.

3. Dialyse:

Der zugeknotete Schlauchabschnitt wurde in das Zentrifugengläschen eingebracht und das System mittels eines Magnetrührers in Bewegung gehalten (Abb. 1). Die Dialysierdauer betrug 22 Stunden bei der Versuchsdurchführung bei 38°C , 48 Stunden bei 40°C .

III) Messung der Radioaktivität:

Nach Abschluss der Dialyse wurde sowohl der inneren wie der äusseren Abteilung des Dialysersystems je 0,6 ml entnommen und in Packard-Glas-Meßküvetten eingebracht. Nach Zusatz von 6 ml absoluten Alkohols und 10 ml Szintillatorflüssigkeit (0,1 g POPOP und 4,0 g PPO auf 1000 ml Toluol) wurden im Tricarb-Szintillationszähler mindestens 5 000 Impulse gezählt. Dann wurde die Impulsrate /min. berechnet.

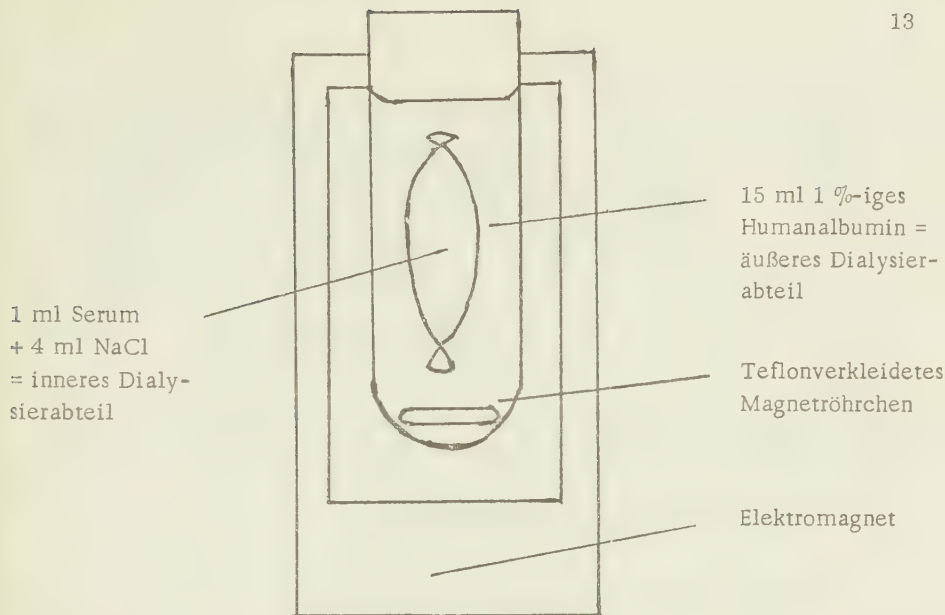


ABBILDUNG 1: Das Dialysiersystem

Fall		Bdg. + (in %)	Bdg. + (in %)	Abweichung ++
Nr.	Name	1. Versuchsreihe	2. Versuchsreihe	
1	L. F.	74	80	6
2	M. I.	78	73	5
3	F. L.	86	87	1
4	A. I.	91	90	1
5	E. L.	75	80	5

TABELLE 1: Doppelversuche: Die Versuche wurden bei 40°C ausgeführt.
Jeweils wurden 0,23 μ g 14 C-4-Cortisol zugesetzt.

Bdg. ++: Anteil des an γ -Globulin gebundenen Cortisols.

Abw. ++: Abweichung der in der 1. Versuchsreihe gewonnenen Werte von denen der zweiten.

IV) Berechnung der Bindung:

Die Konzentration des Cortisols im äußeren Anteil, C_A entspricht dem nicht an Globulin gebundenen Anteil. Die Konzentration des Cortisols im inneren Anteil C_I besteht aus dem an Globulin gebundenen und dem nicht an Globulin gebundenen Anteil. Die Konzentration des an Globulin gebundenen Cortisols entspricht somit $C_I - C_A$. Der Anteil des gebundenen Cortisols am Gesamtcortisol wird daher nach folgender von C. I. MEYER (45) angegebener Formel berechnet:

$$\frac{C_I - C_A}{C_I} \times 100 = \left(1 - \frac{C_A}{C_I}\right) \times 100 = \% \text{ gebundenes Cortisol.}$$

Da sich das exogene (in diesem Fall radioaktive) Steroid ebenso verhält wie das endogene gilt:

$$\left(1 - \frac{C_A}{C_I}\right) \times 100 = \left(1 - \frac{C_{pMA}}{C_{pMI}}\right) \times 100$$

C_I = Konzentration des gesamten Cortisols innen

C_A = Konzentration des gesamten Cortisols außen

C_{pMI} = Impulse pro Minute innen

C_{pMA} = Impulse pro Minute außen.

c) UNTERSUCHUNGEN ZUR METHODIK

1. Doppelversuche:

Die Seren von fünf gesunden Personen wurden in zwei aufeinanderfolgenden Versuchsreihen bei 4 °C dialysiert, wobei 0,23 μ 4- C^{14} -Cortisol zugesetzt wurde (s. Tab. 1). Die Werte für die Cortisolbindung an Globulin lagen in einem Bereich von 73 % bis 90 %. Der Mittelwert der Abweichungen der einzelnen Doppelversuche betrug $\pm 3,6$ %. Die bei Doppelversuchen erhaltenen Werte unterschieden sich also nicht wesentlich voneinander.

2. Volumenänderungen während der Dialyse:

Die Veränderungen im Volumen der einzelnen Abteile des Dialysiersystems wurden untersucht. Bei fünf gesunden Personen wurde das Volumen der inneren Dialysierabteilung bei Beginn der Dialyse bestimmt und nach 48 Stunden Dialyse bei 4 °C wieder gemessen (s. Tab. 2). Dabei fand sich eine Abweichung von -5 bis +2 % des Volumens des inneren Abteils. Im äußeren Anteil Humanalbumin ließ sich auch nach Abschluß der Dialyse kein α -Globulin nachweisen. Durch Berechnung ergibt sich, daß eine Volumenänderung von 5 % bei ausschließlichem Austausch von Albumin den Anteil des gebundenen 4- C^{14} -Cortisols nur um 1 % verändert. Ein Volumenaustausch zwischen innerem und äußerem Dialysierabteil hat somit keinen Einfluß auf das Versuchsergebnis.

Fall		Vol. A + ml	Vol. E ++ ml	Abw. +++
Nr.	Name			
1	R. F.	5,0	4,8	4 %
2	L. A.	5,0	5,1	2 %
3	F. H.	5,0	5,25	5 %
4	W. A.	5,0	4,9	2 %
5	P. R.	5,0	4,75	5 %

TABELLE 2: Volumenänderungen während der Dialyse

Vol. A +: Vor der Dialyse in das innere Abteil eingebrachtes Volumen
 Vol. E ++: Nach der Dialyse im inneren Abteil gemessenes Volumen
 Abw. +++: Abweichung in % des ursprünglichen Volumens

Fall		Bdg. P + %	Bdg. S ++ %	Abw. +++
Nr.	Name			
1	H. F.	79	83	4
2	B. I.	85	90	5
3	D. L.	83	78	5
4	R. F.	90	91	1
5	P. F.	88	82	6

TABELLE 3: Vergleich der Cortisolbindungsfähigkeit in Plasma und Serum bei 4° C unter Zugabe von 0,23 μ 4-C¹⁴ Cortisols

Bdg. P +: Bindung von Cortisol an Globulin in Plasma
 Bdg. S ++: Bindung von Cortisol an Globulin im Serum
 Abw. +++: Abweichung der Bindung von Cortisol an Globulin in Serum von der in Plasma gemessenen

3. Vergleich der Cortisolbindung an Globulin unter Verwendung von Plasma und Serum:

Bei fünf gesunden Personen wurde die Cortisolbindung an Globulin bei 4°C und der Zugabe von $0,23 \mu\text{g } 4\text{-C}^{14}\text{-Cortisol}$ sowohl in frischem Plasma wie auch in Serum bestimmt (s. Tab. 3). Bei einem Wertebereich der Cortisolbindung an Globulin von 78 % bis 91 % ergab sich ein Mittelwert der Abweichungen der beiden Versuchsreihen von $\pm 4,2\%$ (beim Doppelversuch 3, 6). Die Bindung von Cortisol an Plasma unterscheidet sich also nicht deutlich von der an Serum.

4. Einfluß des Einfrierens auf die Cortisolbindung an Globulin:

Wurde das Serum nicht am Tage der Abnahme in der Dialyse angesetzt, so wurde es eingefroren. Eingefrorenes Serum kann aber nur dann unbedenklich zum Versuchsansatz verwendet werden, wenn feststeht, daß der Vorgang des Einfrierens die Cortisolbindungsfähigkeit nicht wesentlich ändert. Bei fünf gesunden Personen wurde die Cortisolbindung an Globulin bei 4°C unter Zusatz von $0,23 \mu\text{g } 4\text{-C}^{14}\text{-Cortisol}$ zunächst am Tage der Abnahme des Serums und dann nochmals in sieben Tagen lang eingefrorenem Serum bestimmt (s. Tab. 4). Der dabei gefundene Mittelwert der Abweichungen der beiden Versuchsreihen voneinander von $\pm 3,4\%$ lag im Bereich des beim Doppelversuch gefundenen Wertes. Das Einfrieren des Serums übt also keinen nachweisbaren Einfluß auf das Versuchsergebnis aus.

5. Dialysierdauer:

Abschluß über den zeitlichen Ablauf der Verteilung des Cortisols zwischen den beiden Dialysierabteilen ergab folgende Versuchsanordnung.

Die Cortisolbindung an Globulin wurde an je zwei gesunden Personen bei 4°C und bei 37°C zu vier verschiedenen Zeitpunkten während der Dialyse untersucht. Bei 4°C ergaben sich bei einer Dialysendauer von 24 bis 75 Stunden keine wesentlichen Veränderungen der Ergebnisse, bei 37°C zwischen 16 und 24 Stunden (s. Tab. 5 und 6). Als Endpunkt der Dialyse erschien ein Zeitpunkt günstig, nach welchem sich die Konzentrationen des $4\text{-C}^{14}\text{-Cortisol}$ in den beiden Abteilen nicht mehr wesentlich änderten. Infolgedessen wurde routinemäßig eine Dialysierzeit von 48 Stunden bei 4°C und von 22 Stunden bei 37°C gewählt.

6. Wiederfindung zugesetzter Radioaktivität im inneren und äußeren Dialysierabteil:

Bei fünf auf die übliche Weise hergestellten Maßproben wurde ein gleicher Zusatz von $4\text{-C}^{14}\text{-Cortisol}$ zugegeben (s. Tab. 7). Der Mittelwert der Wiederfindung in den Maßproben aus dem inneren Abteil betrug $97 \pm 2\%$, in den Maßproben aus dem äußeren Abteil $99 \pm 2\%$ im Vergleich zur Wiederfindung des Zusatzes beim Leerwert. Auf Grund dieses Ergebnisses konnten die Impulsraten in den Proben des inneren und des äußeren Abteils ohne Korrektionsfaktor unmittelbar miteinander verglichen werden.

Fall		Bdg. + %		Bdg. ++ %	Abw. +++
Nr.	Name				
1	H. F.	78		86	8
2	B. I.	86		86	0
3	L. F.	80		74	6
4	P. F.	91		90	1
5	L. P.	83		85	2

TABELLE 4: Vergleich der Cortisolbindungsfähigkeit an Globulin von 7 Tage lang eingefrorenem und frischem Serum. Die Versuche wurden bei 4° C unter Zugabe von 0,23 μ 4-C¹⁴-Cortisol durchgeführt

Bdg. +: Cortisolbindung an Globulin in frischem Serum in %

Bdg. ++: Cortisolbindung an Globulin in 7 Tage lang gefrorenem Serum in %

Abw. +++: Differenz von Bdg. ++ und Bdg. +

Fall		Cortisolbindung an Globulin in %			
Nr.	Name	nach 24 h	nach 47 h	nach 68 h	nach 75 h
1	W. A.	73	77	74	76
2	B. I.	86	87	85	86

TABELLE 5: Verhalten der Werte für die Cortisolbindung an Globulin während der Dialyse bei 4° C unter Zugabe von 0,23 μ 4-C¹⁴-Cortisol

Fall		Cortisolbindung an Globulin in % nach einer Dialysierdauer von				
Nr.	Name	13 h	17 h	21 h	22 h	24 h
1	H. H.	36	36,2	40	35	37
2	L. F.	40	44	42	45	43

TABELLE 6: Verhalten der Cortisolbindung an Globulin während der Dialyse bei 37° C unter Zugabe von 0,23 μ 4-C¹⁴-Cortisol

	Impulsrate		Differenz	% des Zusatzes beim Leerwert
	ohne Zusatz	mit Zusatz		
Leerwert ⁺	29	311	282	100
1 innen	242	506	264	94
2 innen	241	498	257	91
3 innen	319	605	286	102
4 innen	256	539	283	100
5 innen	8	280	272	96
1 außen	44	323	279	99
2 außen	48	305	257	91
3 außen	41	320	279	99
4 außen	45	329	284	101
5 außen	3	292	289	103

TABELLE 7: Vergleich der Wiederfindung zugesetzter Radioaktivität im inneren und äußeren Dialysierabteil

Mittelwert der Wiederfindung in Meßproben aus dem inneren Dialysierabteil: $97 \pm 2 \%$

Mittelwert der Wiederfindung in Meßproben aus dem äußeren Dialysierabteil: $99 \pm 2 \%$

Alle Werte stellen einen Mittelwert auf 2 Proben dar. Jeweils wurden über 5000 Impulse gezählt. Bei allen Werten mit Ausnahme des Leerwertes wurde vorher ein Leerwert von 29 abgezogen.

+ : 6 ml absoluten Alkohols + 10 ml Szintillatorflüssigkeit
+ 0,6 ml H₂O

7. Abhängigkeit des Meßergebnisses vom Zeitpunkt der Messung:

Bei der Messung der Radioaktivität im Szintillationszähler ergab sich eine Abhängigkeit des Meßergebnisses vom zeitlichen Abstand der Messung von der Zugabe der Probe zum Szintillatormischung (s. Abb. 2). Nach etwa dreitägigem Stehen stieg die Impulsrate zu einem Maximum an, auf dem sie dann bis zu 14 Tagen blieb. Durch Schütteln des Meßgläschens ließ sich dieses Maximum schneller erreichen. Dieser Anstieg der Impulsrate erklärt sich wahrscheinlich dadurch, daß anfangs entweder das bindende Eiweiß oder das Lösungswasser einen Teil der vom 4-C^{14} -Cortisol ausgesendeten Impulse abfangen, später aber das radioaktive Cortisol von dem Toluol der Szintillatorflüssigkeit langsam aus der Eiweißbindung und damit aus dem wässrigen Milieu herausgelöst wird, wodurch mehr Impulse frei werden. Eine interessante Nebenbeobachtung war die beträchtlich höhere Steigerung der Impulsrate im inneren Dialysierabteil.

Dieser stärkere Anstieg ist sicherlich der ebenfalls viel stärkeren Bindung des Cortisols an das Cortisol bindende Globulin im inneren Dialysierabteil im Vergleich zu der Bindung des Cortisols an Albumin im äußeren Abteil zuzuschreiben.

8. Einfluß der Temperatur auf die Cortisolbindung an Globulin:

Die Seren von zehn gesunden Personen wurden bei 4°C im Vergleich zu den Seren von zehn gesunden Personen bei 38°C und außerdem von drei Patienten bei Zimmertemperatur (18 bis 22°C) untersucht (s. Tab. 8, 9, 10). Bei 4°C ergab sich ein Mittelwert der Cortisolbindung von $83,6 \pm 1,5\%$, bei 38°C von $49 \pm 2,3\%$. Bei Zimmertemperatur betrugen die gefundenen Werte 83 bis 86% , lagen also im Bereich der bei 4°C beobachteten Werte. Aus diesen Versuchsergebnissen läßt sich schließen, daß die Cortisolbindung an Globulin bei 4°C wesentlich höher als bei 38°C ist, im Bereich von 4°C bis Zimmertemperatur jedoch in der gleichen Größenordnung liegt.

9. Einfluß der Menge des dem Dialysiersystem zugesetzten Cortisols auf die Bindung des Cortisols an Globulin bei 4°C :

Das Verhalten der Cortisolbindung an Globulin bei den beiden routinemässig dem Dialysiersystem zugesetzten Mengen 4-C^{14} -Cortisols ($0,23\mu$ und $0,075\mu$) (s. Tab. 8 und 11) wurde untersucht.

Bei je 10 gesunden Versuchspersonen ergab sich bei einer Zugabe von $0,23\mu$ 4-C^{14} -Cortisol ein Mittelwert des gebundenen Anteils von $83,6 \pm 1,5\%$, bei einer Zugabe von $0,075\mu$ ein Mittelwert von $85 \pm 1,2\%$. Die Werte lagen also im gleichen Bereich. Sodann wurde untersucht, wie sich die Cortisolbindung an Globulin verhält, wenn die zugegebene Menge Cortisols in einem erweiterten Bereich von $0,0115\mu$ bis 2μ variiert (s. Abb. 3). Auch bei kleineren Zugaben Cortisol als den üblichen ($0,075\mu$ und $0,23\mu$) stieg die Cortisolbindung an Globulin nicht an und erst bei Zugaben in der Größenordnung von 1μ fiel sie deutlich ab.

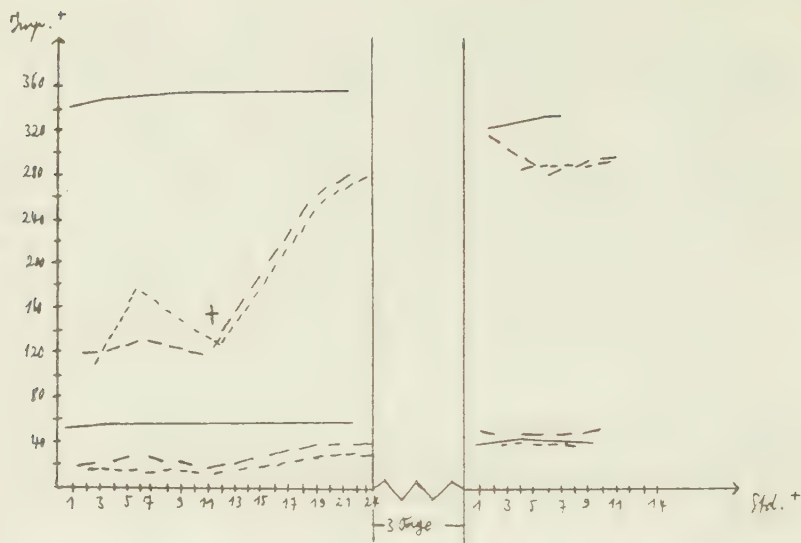


ABBILDUNG 2. Abhängigkeit des Meßergebnisses vom Zeitpunkt der Messung: eine Probe (I), die zum Zeitpunkt der Messung bereits 3 Tage in meßbereitem Zustand bei Zimmertemperatur gestanden hat, zeigt im Verlauf der Messung, nach Herausnehmen und Schütteln und auch nach weiteren 3 Tagen Werte in der gleichen Größenordnung. 2 Proben (II und III), die sofort nach Beendigung der Dialyse zur Messung gebracht wurden, zeigten nach Herausnehmen und Schütteln einen starken Anstieg der Impulsrate und nahmen auch nach dreitägigem Stehen in ihrer Intensität noch etwas zu.

Probe I —————
 Probe II - - - - -
 Probe III

Die oberen Linien entsprechen jeweils dem inneren Dialysierabteil, die unteren dem äußeren.

Imp. +: Im Szintillationszähler gemessene Impulse pro Minute
 Std. +: Stunden nach Beginn der Messung
 + : Herausnehmen und Schütteln der Proben

Fall		Geschlecht	Cortisolbindung an Globulin
Nr.	Name		in %
1	M. I.	m	85
2	F. L.	m	74
3	D. L.	m	82
4	H. F.	m	79
5	V. R.	m	84
6	B. I.	m	86
7	L. D.	m	85
8	L. W.	w	80
9	R. F.	w	92
10	P. F.	w	89
Mittelwert		m	$82 \pm 1,6$
"		w	$87 \pm 3,6$
"		gesamt m + w	$83,6 \pm 1,5$

TABELLE 8: Cortisolbindung an Globulin bei Gesunden bei 40° C unter Zugabe von 0,23 γ 4-C¹⁴-Cortisol

Fall		Geschlecht	Cortisolbindung an Globulin
Nr.	Name		in %
1	W. A.	m	50
2	V. R.	m	40
3	F. A.	m	51
4	M. I.	m	63
5	L. F.	m	50
6	D. L.	m	45
7	H. F.	m	39
8	R. V.	w	53
9	R. F.	w	47
10	L. F.	w	54
Mittelwert		m	$48 \pm 2,2$
"		w	$51 \pm 2,7$
"		gesamt m + w	$49 \pm 2,3$

TABELLE 9: Cortisolbindung an Globulin bei Gesunden bei 38° C unter Zugabe von 0,23 γ 4-C¹⁴-Cortisol

Fall		G ⁺	Bdg. ++ %	Diagnose
Nr.	Name			
1	S. M.	w	86	Viruspneumonie
2	D. Z.	w	84	Adipositas, Diabetes nach Encephalitis
3	H. I.	w	83	Aorteninsuffizienz, Endocarditis, chronische Glomerulonephritis

TABELLE 10: Cortisolbindung an Globulin bei Zimmertemperatur (18 - 22° C) unter Zugabe von 0,23 γ 4-C¹⁴-Cortisol

G⁺: Geschlecht

Bdg. ++: Cortisolbindung an Globulin in %

Fall		G ⁺	Bdg. ++ %
Nr.	Name		
1	L. W.	w	86
2	W. A.	w	88
3	F. A.	m	87
4	M. I.	m	87
5	L. F.	m	79
6	D. L.	m	81
7	R. V.	w	90
8	V. R.	m	80
9	R. F.	w	87
10	H. F.	m	85

Mittelwert gesamt m + w 85 $\pm$ 1,2

TABELLE 11: Cortisolbindung an Globulin bei Gesunden bei 4° C unter Zugabe von 0,075 γ 4-C¹⁴-Cortisol

G⁺: Geschlecht

Bdg. ++: Cortisolbindung an Globulin in %

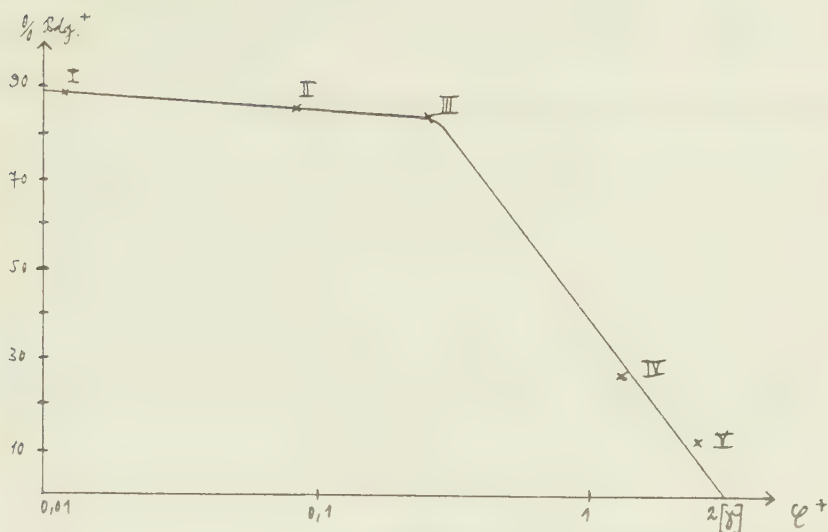


ABBILDUNG 3: Verhalten der Bindung von Cortisol an Globulin bei Zugabe von verschiedenen Mengen Cortisol

% Bdg. $^+$: Anteil des an Globulin gebundenen Cortisols vom Gesamtcortisol in %

C^+ : Menge des zum Dialysiersystem zugegebenen Cortisols in γ

Die Werte II und III stellen einen Mittelwert aus 20 Versuchen dar, die Werte I und V einen Mittelwert aus 5 Versuchen, der Wert IV einen Mittelwert aus 10 Versuchen

10. Reinheit des benutzten Humanalbumin:

Die Reinheit des benutzten Humanalbumins wurde mittels Papierelektrophorese untersucht. Neben Albumin fand sich ein nicht meßbarer Anteil von γ -Globulin, jedoch kein α -Globulin.

ERGEBNISSE DER METHODISCHEN UNTERSUCHUNGEN:

1. Volumenänderungen während der Dialyse beeinflussen das errechnete Ergebnis nur um $\pm 1\%$. Sie wurden bei der Berechnung nicht berücksichtigt, da dieser Unterschied innerhalb der Fehlerbreite der Methode lag.
2. Serum und Plasma ergeben keine verschiedenen Werte für die Bindung von Cortisol an Globulin.
3. Wird das Serum nicht sofort nach Abnahme verwendet, kann es auch nach Einfrieren und Auftauen ohne Veränderung der Werte zum Versuchsansatz gebracht werden.
4. Bei 37°C erwies sich eine Dialysierdauer von 22 Stunden, bei 4°C eine Dauer von 48 Stunden als zweckmässig. Es stellt sich zu diesem Zeitpunkt ein Dialysiergleichgewicht eingestellt hatte.
5. Die Wiederfindung zugegebener Radioaktivität in Messproben vom inneren und äußeren Dialysierabteil ist gleich.
6. Auf Grund des beobachteten Elutionseffektes ist es zweckmässig, die meist bereits angesetzten Proben vor der Messung mindestens drei Tage bei Zimmertemperatur stehen zu lassen.
7. Zur Untersuchung der Cortisolbindung an Globulin war die Temperatur von 4°C günstig, da von Zimmertemperatur bis 35°C ein starker Abfall der Bindung erfolgte. Daher kann angenommen werden, daß in dem Bereich der höheren Temperatur kleine Temperaturänderungen eine wesentlich größere Schwankung der Ergebnisse als bei 4°C hervorrufen.
8. Cortisolzugaben im Bereich von 0,005 μg bis 0,25 μg brachten bei 4°C gleiche Meßergebnisse und konnten daher stellvertretend gebraucht werden.
9. Das bei den Versuchen benutzte Humanalbumin erhielt keine papierelektrophoretisch nachweisbaren Verunreinigungen mit α -Globulinen.

UNTERSUCHUNGEN DER CORTISOLBINDUNG AN GLOBULIN BEI PATIENTEN MIT VERSCHIEDENEN ERKRANKUNGEN:

1. Einfluß der Temperatur auf die Cortisolbindung an Globulin bei Patienten mit verschiedenen Erkrankungen:
 An jeweils zehn Patienten wurde die Cortisolbindung an Globulin bei 4° C und bei 38° C bestimmt (s. Tab. 12, 13). Bei 4° C ergab sich ein Mittelwert des an Globulin gebundenen Cortisols von $85 \pm 1,5 \%$, bei 38° C von $48 \pm 3,4 \%$. Die Werte bei beiden Temperaturen lagen also im Bereich der bei Gesunden gefundenen Werte ($83,6 \pm 1,5 \%$ bzw. $49 \pm 2,3 \%$).
 2. Abhängigkeit der Cortisolbindung an Globulin von der Menge des dem Dialysiersystem zugesetzten Cortisols:
 An je 10 Patienten wurde bei 4° C die Cortisolbindung an Globulin bei einer Zugabe von $0,075 \mu\text{g}$ und $0,23 \mu\text{g}$ 4-C¹⁴-Cortisol bestimmt (s. Tab. 12 und 14). Bei einer Zugabe von $0,075 \mu\text{g}$ betrug der Mittelwert $86 \pm 1,9 \%$, bei einer Zugabe von $0,23 \mu\text{g}$ $85 \pm 1,5 \%$. Bei einer zusätzlichen Zugabe von $1,0 \mu\text{g}$ reinen Cortisols zeigte die Bindung einen Abfall, der ebenso groß war wie der bei Gesunden (s. Tab. 15 und 16).
 3. Untersuchung der Cortisolbindung an Globulin bei Patienten mit verschiedenen Erkrankungen im einzelnen:
 - a) bei Nierenkranken:
 Bei fünf Patienten mit verschiedenen Nierenleiden fand sich ein Mittelwert von $86,2 \pm 1,1 \%$ (s. Tab. 17). Dieser Wert wich weder von dem bei Gesunden noch von dem bei Kranken generell beobachteten Ergebnis deutlich ab.
 - b) Mittels der beschriebenen Versuchsanordnung wurden die Seren von 16 Patienten mit Fettsucht verschiedener Ursache untersucht (s. Tab. 18). Es ergab sich ein Mittelwert der Cortisolbindung an Globulin von $86 \pm 0,9 \%$.
 - c) bei Hypertonikern:
 Bei zwölf Patienten mit erhöhtem Blutdruck (systolischer Blutdruck größer als 160) renaler und essentieller Art wurde die Cortisolbindung an Globulin bestimmt und mit der von acht Patienten mit normalem Blutdruck verglichen (s. Tab. 19). Bei den Hypertonikern ergab sich ein Mittelwert von $87 \pm 0,9 \%$, bei den Normotonikern ein Mittelwert von $81 \pm 1,7 \%$.
- Die Differenz der Mittelwerte der Cortisolbindung an Globulin bei Personen mit erhöhtem und normalem Blutdruck ist deutlich größer als die doppelte mittlere Streuung der Mittelwerte.

Fall		G ⁺	Bdg. ⁺⁺ %	Diagnose
Nr.	Name			
1	H. G.	m	86	Schockniere
2	F. A.	m	91	Endangitis obliterans, Hypertonus
3	G. L.	m	85	Polyzythämie, Hypertonus
4	G. S.	m	83	chronische Hepatitis
5	L. C.	m	83	Zystenniere mit Niereninsuffizienz
6	H. W.	w	86	Hyperthyreose, Hypertonus
7	R. E.	w	87	Herzinsuffizienz, Pyelonephritis
8	K. M.	w	79	Adipositas
9	W. A.	w	88	Spondylosis der LWS
10	K. G.	w	77	chronischer Gelenkrheumatismus

Mittelwert m + w 85 $\pm$ 1,5

TABELLE 12: Das Verhalten der Bindung von Cortisol an Globulin bei Patienten mit verschiedenen Erkrankungen bei 4° C unter Zusatz von 0,23 γ 4-C¹⁴-Cortisol

G⁺: Geschlecht

Bdg. ⁺⁺: Cortisolbindung an Globulin

Fall		G ⁺	Bdg. ⁺⁺ %	Diagnose
Nr.	Name			
1	L. C.	m	56	Zystenniere mit Niereninsuffizienz
2	A. W.	m	45	Cholelithiasis
3	B. A.	m	42	Gicht, essentielle Hypertonie
4	H. V.	m	38	Herzinfarkt, Gicht
5	N. G.	w	37	AB-Block, Hypertonie
6	W. M.	w	28	dekompensierter Hypertonus
7	R. M.	w	37	Cholelithiasis, Pyelonephritis
8	H. H.	w	49	Hirsutismus, sek. Amenorrhoe
9	H. I.	w	60	Endocarditis, Aorteninsuffizienz
10	D. Z.	w	60	Adipositas, debilitas nach Encephalitis

Mittelwert m + w 48 $\pm$ 3,4

TABELLE 13: Das Verhalten der Bindung von Cortisol an Globulin bei Patienten mit verschiedenen Erkrankungen bei Versuchsansatz bei 38° C unter Zugabe von 0,23 γ 4-C¹⁴-Cortisol

G⁺: Geschlecht

Bdg. ⁺⁺: Cortisolbindung an Globulin in %

Fall		G ⁺	Bdg. ⁺⁺ %	klinische Diagnose
Nr.	Name			
1	O. K.	m	91	chron. Bronchitis, ess. Hypertonie
2	W. M.	w	85	dekompensierter Hypertonus
3	R. M.	w	76	Cholelithiasis, Pyelonephritis
4	L. C.	m	83	Zystenniere mit Niereninsuffizienz
5	W. A.	w	83	Spondylosis der LWS
6	B. J.	w	78	Hyperacide Gastritis, Obstipation
7	W. E.	w	86	chron. Glomerulonephritis
8	H. M.	w	77	Hyperthyreose, Debilitas
9	O. P.	m	92	essentielle Hypertonie
10	H. H.	m	85	sek. Amenorrhoe, Hirsutismus

Mittelwert m + w $86 \pm 1,9$

TABELLE 14: Das Verhalten der Bindung von Cortisol an Globulin bei Patienten mit verschiedenen Erkrankungen bei Versuchsdurchführung bei 40° C unter Zugabe von 0,075 μ 4-C¹⁴-Cortisol

G⁺: Geschlecht

Bdg. ⁺⁺: Cortisolbindung an Globulin in %

Fall		G ⁺	Bdg. ⁺⁺ %	Bdg. ⁺⁺⁺ %
Nr.	Name			
1	W. A.	m	37	35
2	B. J.	m	36	32
3	L. D.	m	35	15
4	V. R.	m	34	24
5	L. W.	w	30	28

TABELLE 15: Der Abfall der Cortisolbindung an Globulin bei Gesunden bei 40° C auf Zugabe von 1,0 μ reinen nicht radioaktiven Cortisols im Vergleich zur Zugabe von 0,075 μ 4-C¹⁴-Cortisol

Bdg. ⁺⁺: Cortisolbindung an Globulin in % nach Zugabe von 0,075 μ 4-C¹⁴-Cortisol

Bdg. ⁺⁺⁺: nach zusätzlicher Zugabe von 1 μ reinen Cortisols

Fall		G ⁺	Bdg. ++ %	Bdg. +++ %	klinische Diagnose
Nr.	Name				
1	A. F.	w	82	40	Adipositas
2	K. M.	w	89	32	Adipositas, Cholecystitis
3	W. M.	w	85	18	Dekompensierter Hypertonus
4	P. F.	w	88	26	Ulcus ventriculi
5	H. M.	w	77	25	Hyperthyreose

TABELLE 16: Der Abfall der Cortisolbindung an Globulin bei Patienten mit verschiedenen Erkrankungen bei 4° C auf Zugabe von 1 μ reinen nicht radioaktiven Cortisols im Vergleich zur Zugabe von 0,075 μ 4-C¹⁴-Cortisol

G⁺: Geschlecht

Bdg. ++: Cortisolbindung an Globulin in % nach Zugabe von 0,075 4-C¹⁴-Cortisol

Bdg. +++: nach zusätzlicher Zugabe von 1 reinen Cortisols

Fall		G ⁺	Bdg. ++ %	klinische Diagnose
Nr.	Name			
1	H. G.	m	86	Schockniere
2	W. E.	w	86	chron. Glomerulonephritis
3	L. C.	m	83	Zystenniere mit Niereninsuffizienz
4	S. K.	w	86	Nephrolithiasis
5	M. R.	w	90	chron. Zystopyelonephritis
6	H. J.	w	85	chron. Glomerulonephritis

Mittelwert m + w 86 $\pm$ 0,9

TABELLE 17: Das Verhalten der Bindung von Cortisol an Globulin bei Patienten mit verschiedenen Nierenerkrankungen bei 4° C bei Zugabe von 0,23 μ 4-C¹⁴-Cortisol

G⁺: Geschlecht

Bdg. ++: Cortisolbindung an Globulin in %

Fall		Geschlecht	Größe cm	Gewicht kg	Bdg. $\pm$ %	Bemerkungen
Nr.	Name					
1	H. G.	m	176	96	86	art. Embolie bei abs. Arrhythmie
2	O. P.	m	180	92	84	essenzielle Hypertonie
3	L. D.	m	180	93,4	83	Zysteniere mit Niereninsuffizienz
4	G. L.	m	178	101,8	93	Polyzythämie, Herzinsuffizienz
5	P. E.	m	174	218,5	82	unkomplizierte Adipositas
6	V. A.	m	160	114	85	unkomplizierte Adipositas
7	K. M.	w	167	86,8	79	unkomplizierte Adipositas
8	W. A.	w	157	103,2	83	Spondylosis der LWS
9	W. M.	w	168	96,3	85	dekompensierter Hypertonus
10	A. E.	w	170	94,0	82	unkomplizierte Adipositas
11	K. U.	w	161	106,6	89	Cholecystitis
12	F. A.	w	164	96,5	83	unkomplizierte Adipositas
13	K. L.	w	171	114,8	92	Verd. auf Zwischenhirntumor
14	M. V.	w	163	88,2	86	unkomplizierte Adipositas
15	D. Z.	w	161	104,0	87	Debilitas nach Encephalitis
16	G. G.	w	174	102,0	85	unkomplizierte Adipositas
Mittelwert						
"		m			86	
"		w			86	
		m + w			86 $\pm$ 0,9	

TABELLE 18: Cortisolbindung an Globulin bei 40° C unter Zusatz von 0,23 μ 4-C¹⁴-Cortisol bei Patienten mit Fett-sucht verschiedener Ursache

Bdg. $\pm$ %: Cortisolbindung an Globulin in %

Patienten mit erhöhtem Blutdruck					mit normalem Blutdruck					
Fall		G ⁺	Blutdruck syst./diast.	Bem.	Bdg. ++	Fall			G ⁺	Bdg. ++
Nr.	Name					- Nr.	Name			
1	O. K.	m	160/90	ess.	91	1	H. G.	m	86	
2	H. W.	w	190/100	ess.	86	2	H. H.	m	85	
3	F. A.	m	175/110	ess.	91	3	K. M.	w	79	
4	W. E.	m	200/130	ren.	86	4	K. G.	w	78	
5	L. C.	m	170/100	ren.	81	5	R. M.	w	76	
6	G. L.	m	180/80	p ⁺	93	6	B. I.	w	78	
7	R. E.	w	240/100	ess.	87	7	K. U.	w	89	
8	S. S.	m	160/80	ess.	86	8	H. U.	w	77	
9	W. A.	w	160/90	ess.	83					
10	W. M.	w	165/100	ess.	85					
11	S. K.	w	160/100	ess.	86					
12	N. G.	w	180/90	ess.	87					

Mittelwert

m

88,5

"

w

86

m + w

87 ± 0,9

Mittelwert

m + w

81 ± 1,7

TABELLE 19: Verhalten der Bindung von Cortisol an Globulin bei Personen mit erhöhtem und normalem Blutdruck gemessen bei 4° C unter Zugabe von 0,23 μ 4-C¹⁴-Cortisol

G⁺: Geschlecht

Bdg. ++: Cortisolbindung an Globulin in %

Bem.: Bemerkung über die Art des Blutdrucks

ess.: essentiell

ren.: renal

p⁺: Polyzythämie

4. Untersuchung der Cortisolbindung an Globulin während einer ACTH-Infusion:
An drei Patienten wurde während einer sechsstündigen Infusion von 25 IE ACTH die Cortisolbindung an Globulin vor der Infusion, nach zwei, vier und sechs Stunden untersucht. Die Werte fielen im Verlauf der Infusion deutlich ab (s. Tab. 20). Vor der Infusion und im Verlaufe der Infusion wurden die 17-OH-Corticosteroide im Serum bestimmt. Sie zeigten einen deutlichen Anstieg.
5. Beziehung zwischen der Cortisolbindung an Globulin und der Konzentration der α -Globuline:
An 20 Patienten wurde die Menge der α -Globuline durch Papierelektrophorese und Gesamteiweißbestimmung ermittelt und in Vergleich zur Cortisolbindung an Globulin gesetzt (s. Abb. 4). Dabei läßt sich keine Beziehung zwischen der Konzentration der α -Globuline und dem gebundenen Anteil des Cortisols aufstellen.

ZUSAMMENFASSUNG DER AM SERUM VON PATIENTEN GEWONNENEN ERGEBNISSE:

1. Bei Gleichgewichtsdialyse unter Zusatz von 0,23 γ Cortisol fand sich bei zehn Patienten mit verschiedenen Erkrankungen bei 4° C ein Mittelwert des Anteils an Globulin gebundenen Cortisols von $85 \pm 1,5 \%$, bei 37° C von $48 \pm 3,4 \%$, im Vergleich dazu bei Gesunden bei 4° C $83,6 \pm 1,5 \%$, und bei 37° C $49 \pm 2,3 \%$.
2. Bei Gleichgewichtsdialyse bei 4° C wich der prozentuale Anteil des an Globulin gebundenen Cortisols bei Zugabe von 0,23 γ 4-C¹⁴-Cortisol mit $85 \pm 1,5 \%$ im Vergleich zu dem bei Zugabe von 0,075 γ gefundenen Wert: $86 \pm 1,9 \%$ nicht erheblich ab.
3. Ein starker Abfall des Anteils gebundenen Cortisols ergab sich bei Zugabe von 1 γ nicht radioaktiven Cortisols zum Dialysiersystem.
4. Untersuchungen an den Seren von fünf Patienten mit verschiedenen Nierenerkrankungen ergaben einen Mittelwert der Cortisolbindung an Globulin von $86,2 \pm 1,1 \%$.
5. Bei 16 Patienten mit Fettsucht ungeklärter Ursache zeigte sich ein Mittelwert von $86 \pm 0,9 \%$.
6. Der Anteil an Globulin gebundenen Cortisols betrug bei 12 Patienten mit Hypertonus (renal und mit ungeklärter Ursache) $87 \pm 0,9 \%$ im Vergleich zu acht Normotonikern, bei denen sich ein Mittelwert von $81 \pm 1,7 \%$ ergab.
7. Während der Infusion von 25 IE ACTH ergab sich bei drei Patienten ein deutlicher Abfall des gebundenen Cortisols.

Fall	Nr. Name	1 F. A.	2 H. M.	3 S. S.	4 L. A.
Geschlecht		w	w	w	w
Klinische Diagnose		Adipositas	Hyperthyreose	Adipositas	Cholecystitis
Bdg. + I		83	77	80	87
17 OHCS I		9,5	11,1	10,5	9,2
Bdg. + II		55	57	60	58
17 OHCS II		20,9	24,9	27,0	28,8
Bdg. + III		51	69	58	46
17 OHCS III		25,4	27,4	28,5	26,5
Bdg. + IV		68	70	57	50
17 OHCS IV		--	--	--	--

TABELLE 20: Verhalten der Cortisolbindung an Globulin bei 40° C während einer ACTH-Infusion und Verhalten der 17-OH-Corticosteroide

Bdg. +: Cortisolbindung an Globulin in %

17 OHCS: 17 OH-Corticosteroide im Serum in

I : Vor ACTH-Infusion

II : 2 Stunden nach Beginn der ACTH-Infusion

III : 4 " " " " " "

IV : 6 " " " " " "

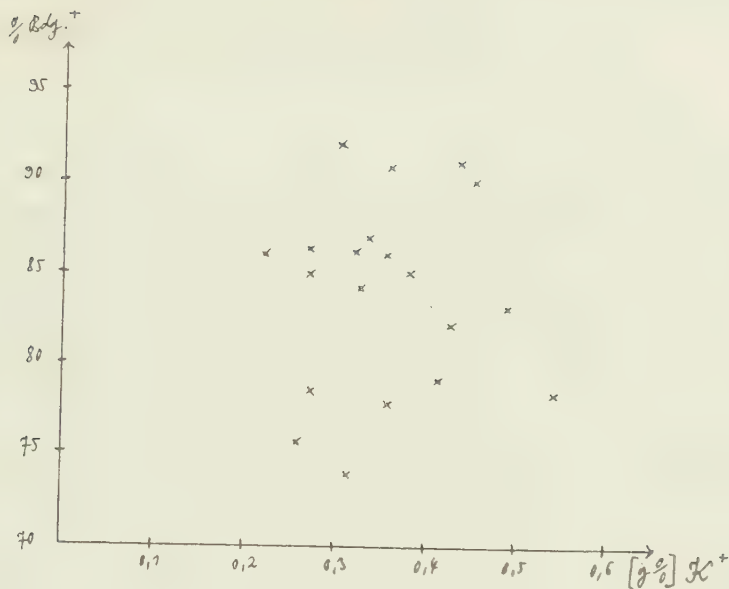


ABBILDUNG 4: Auf der Abbildung läßt sich keine Korrelation zwischen der Menge der α -Globuline und der Bindung des Cortisols an Globulin nachweisen

Bdg. $^{+}$: Bindung von Cortisol an Globulin bei 4° C unter Zugabe von 0,23 μ g 4-C¹⁴-Cortisol

K $^{+}$: Konzentration der α -Globuline im Serum in g%

- c) Eine Beziehung der Menge der α -Globuline im Serum und der Höhe des gebundenen Cortisols ließ sich nicht aufstellen.

D) DISKUSSION

1) Zur Methode

Die in der vorliegenden Arbeit benutzte Methode weist mehrere Vorteile auf. Die Durchführung des Versuchs und die Auswertung der Ergebnisse gestaltet sich einfach. Für die Ergebnisse ist es unwesentlich, ob Serum oder Plasma verwendet wird. Serum braucht nicht gleich benutzt zu werden, sondern kann eingefroren und vor Gebrauch aufgetaut werden, ohne daß die Bindungsfähigkeit von Cortisol an Globulin sich verändert. Die Volumänderungen in den einzelnen Dialyseranteilen sind so gering, daß sie nicht beachtet zu werden brauchen. In den radioaktiven Messproben wird die Verteilung des Cortisols direkt bestimmt, denn CLAUDEL-MEYER (46) konnte mittels Papirchromatographie nachweisen, daß das Cortisol durch die Dialyse nicht verändert wird. Daraus konnte MEYER zeigen, daß der Zusatz von Penicillin zur Abtötung gegen toxische Superinfektion das Ergebnis nicht beeinflusst. Auch die Bestimmung der Anteils des an Globulin gebundenen Cortisols gestaltet sich deswegen besonders einfach, da die Wiederfindung radioaktiven Cortisols im inneren und äußeren Dialyseranteil gleich ist und daher kein Korrekturfaktor notwendig wird. Durch die Verwendung einer 1%igen Albuminlösung im äußeren Anteil des Dialysersatzes und einer 0,1%igen Lösung von β -Globulin im inneren Anteil wird nach SANDHERR (84) erreicht, daß nur die Bindung des Cortisols an Globulin nicht aber an Albumin gemessen wird, da unter diesen Versuchsbedingungen inner und außen gleiche Albuminkonzentrationen bestehen. Das benutzte Humanalbumin war auch nicht mit γ -Globulin verunreinigt, was eine Verzerrung des Ergebnisses hätte bewirken können, da Cortisol bekanntlich an ein α -Globulin gebunden wird (29, 26). Die geringsten in der Dialyse gebrauchten Zusätze radioaktiven Cortisols ($9 \cdot 10^{-11}$ g/ml Serum entsprechend $1,11 \cdot 10^{-10}$ m. Serum), die dazwischen im physiologischen Konzentrationsbereich liegen, bewirkten keine deutlich verschiedenen Werte für die Bindung von Cortisol an Globulin als die kontinuierlich gebrauchten ($0,075 \cdot 10^{-10}$ m. und $0,21 \cdot 10^{-10}$ m.). Daraus konnte geschlossen werden, daß die bei der Verwendung dieser Konzentration gemessene Bindung des Cortisols an Globulin der im Serum vorhandene Cortisol-Konzentration entspricht. Die Durchführung der Dialyse erscheint bei 40°C recht zweckmäßig. Da von 40°C bis Zimmertemperatur die gemessenen Werte im gleichen Bereich lagen, konnte angenommen werden, daß auch größere Temperaturschwankungen bei Versuchsdurchführung bei 40°C keinen wesentlichen Einfluß auf das Versuchsergebnis haben dürften. In der Tat war auch die Streuung der Versuchsergebnisse bei 37°C etwa doppelt so groß als bei 40°C .

Unphysiologisch an der Methode ist die Wahl der Versuchstemperatur, sowie die Vernachlässigung des Einflusses der Erythrozyten und des Gewebes auf die Bindung des Cortisols an Globulin. Die Ergebnisse dürfen daher nur mit Einschränkungen auf die Verhältnisse in vivo übertragen werden. Ein weiterer Nachteil ist die breite Streuung der Ergebnisse, die nur vorsichtige Aussagen erlaubt.

2) Diskussion der an Patienten erhobenen Ergebnisse

Interessant war der Befund, daß zwischen der Menge der α -Globuline und der Menge gebundenen Cortisols keine Beziehung bestand (s. Abb. 4). Dieses Ergebnis läßt annehmen, daß das Cortisol bindende Globulin nur einen kleinen Teil der α -Globuline darstellt und daß die Cortisolbindung an Globulin durch Verschiebungen in der Serumweißzusammensetzung nur wenig beeinflußt wird. Im Gegensatz hierzu fand WESTPHAL (100, 101) bei adrena- und hypophysekтомierten Ratten eine Erhöhung der Cortisolbindungsfähigkeit des Serums, die eine Vermehrung der α -Globuline parallel ging. Weiterhin war der Anteil der Bindung von Cortisol an Globulin nach ACTH-Infusion ein bemerkenswertes Ergebnis (s. Tab. 20). Er läßt sich zwanglos durch die gleichzeitige Erhöhung der 17-OH-Corticosteroide erklären. Im Gegensatz zu DE MOOR (75) konnte bei Patienten mit Versucht verschiedener Ursache kein auffälliger Befund erhoben werden (s. Tab. 18). Ebenso wenig zeigte die Bindung von Cortisol an Globulin bei Patienten mit verschiedenen Nierenerkrankungen ein vom Gesunden abweichendes Verhalten. Bei Patienten mit erhöhtem Blutdruck ergab sich im Vergleich zu Patienten mit normalem Blutdruck ein deutlich erhöhter Wert (s. Tab. 16), ein Befund, der weitere Untersuchung bedarf. Aus diesen Ergebnissen lassen sich aber keine Schlüsse auf die Bedeutung des Cortisol bindenden Globulins bei pathologischen Zuständen ziehen.

3) Versuch einer Deutung der physiologischen Funktion des Cortisol bindenden Globulins anhand der bisher vorliegenden Befunde

Die physiologische Bedeutung der Bindung des Cortisols an Globulin bleibt noch weitgehend unklar. Zu ihrer Klärung könnten einige in der Graviddat und nach Oestrogenverabreichung erhobene Befunde beitragen. Die primärlich auf das schwangere Frauen einen erhöhten Plasma-17-OH-Corticosteroid-Spiegel zeigten, ohne irgendwelche Zeichen einer Hypercortinämie aufzuweisen und ohne eine erhöhte Urinausscheidung von 17-OH-Corticosteroid-metaboliten zu zeigen. Außerdem wurde bei Schwangeren eine erhöhte Bindung von Cortisol an Globulin gefunden (7, 26, 73, 81). Im Verlaß mit der Beobachtung von DAUCHADAY (10), daß das an Eiweiß gekoppelte Cortisol eine viel niedrigere renale Clearance als das weniger an Eiweiß gekoppelte Corticosteroid-Glucocorticoid aufwies, kann man sich diese Erscheinung folgendermaßen erklären:

1. Das an Globulin gebundene Cortisol ist biologisch inaktiv. Daher wiesen die Schwangeren trotz erhöhtem 17-OH-Corticosteroid-Spiegel keine Zeichen einer Nebennierenrindenüberfunktion auf. Es läßt sich annehmen, daß das gebundene Cortisol ebenso wie es nicht in der peripheren Zelle angreift auch nicht in die Leberzelle eindringt. Deshalb gilt:
2. Das gebundene Cortisol wird nicht metabolisiert. Deshalb war der Anteil der glukuronierten Cortisolmetaboliten im Urin der Schwangeren nicht erhöht.
3. Das gebundene Cortisol wird kaum durch die Niere ausgeschieden. Deshalb ist die Gesamt-17-OH-Corticosteroidausscheidung bei Schwangeren trotz erhöhter 17-OH-Corticosteroid-Spiegel im Serum nicht gesteigert.

Diese Befunde lassen folgende Deutung zu:

1. Die Bindung von Cortisol an Globulin dient der Vergrößerung des zirkulierenden Cortisolreservoirs. Bei erhöhtem Verbrauch kann Cortisol aus seiner Bindung heraus nachdissoziieren, ohne daß sofort die Nebennierenrinde mehr sezernieren muß.
2. Weiterhin dient die Bindung des Cortisols an Globulin auch der Stabilisierung des aktiven = nicht gebundenen Cortisols bei wechselnden Beanspruchungs- und Sekretionsverhältnissen. Es könnte hierdurch z. B. der Tag- und Nachtrhythmus der Nebennierenrinde ausgeglichen werden.
3. Ferner ist einzusehen, daß die Bindung des Cortisols an Globulin auch eine Sparmaßnahme darstellt, da nur der nicht gebundene Anteil in der Leber glukuroniert und nachher durch die Niere ausgeschieden wird. Nach der Passage von Niere und Leber kann das gebundene Cortisol wieder nachdissoziieren, um einen ähnlichen Spiegel biologisch aktiven Cortisols wieder herzustellen. Die gebundene Form würde damit eine Bereitstellung unter der Vermeidung der Metabolisierung darstellen.

In Übereinstimmung mit diesen Annahmen kann die Erhöhung der Cortisolbindung an Globulin in der Schwangerschaft als erhöhte Cortisolreserve für die Beanspruchungen der Geburt gedeutet werden.

Es wird auch diskutiert (91), ob eine herabgesetzte Bindung des Cortisols an Globulin für die Ätiologie mancher Cushing-Syndrome verantwortlich zu machen sei. In solchen Fällen wäre ein Therapieversuch mit Oestrogenen gerechtfertigt.

Ferner könnte die Bindung des Cortisol an Globulin auch eine Bedeutung für die therapeutische Anwendung von Prednisolon haben, das ebenso wie Cortisol an Eiweiß gebunden wird (43).

E) ZUSAMMENFASSUNG

1. Eine Methode zur Bestimmung des an α -Globulin gebundenen Cortisols wird beschrieben.
2. Untersuchungen an 10 gesunden Versuchspersonen ergaben bei Versuchsansatz bei 4^o C und der Zugabe von 0,23 μ 4-C¹⁴-Cortisol einen Mittelwert von 83,6 $\pm$ 1,5 %, bei 37^o C von 49 $\pm$ 2,3 % der Bindung von Cortisol an Globulin. Dieser Wert war bei weiterer Zugabe von 1 μ reinen Cortisols erheblich niedriger.
3. Untersuchungen an 10 Patienten mit verschiedenen Erkrankungen ergaben bei Versuchsansatz bei 4^o C unter Zugabe von 0,23 μ 4-C¹⁴-Cortisol einen Mittelwert der Bindung des Cortisols an Globulin von 85 $\pm$ 1,5 %, bei 37^o C von 48 $\pm$ 3,4 % und einer erheblich niedrigeren Bindung bei Zugabe von 1 μ reinen Cortisols.
4. Bei 5 Patienten mit verschiedenen Nierenleiden ergab sich in der Dialyse bei 4^o C ein Mittelwert von 86,2 $\pm$ 1,1 %, bei 16 Patienten mit Fettsucht verschiedener Ursache ein Mittelwert von 86 $\pm$ 0,9 %, bei 12 Patienten mit erhöhtem Blutdruck 87 $\pm$ 0,9 % im Vergleich zu 8 Patienten mit normalem Blutdruck (81 $\pm$ 1,7 %).
5. Während einer 6-stündigen Infusion von ACTH sank bei 3 Patienten der Anteil der an Globulin gebundenen Menge Cortisols deutlich ab.
6. Zwischen der Menge der α -Globuline und dem Anteil an Globulin gebundenen Cortisols ließ sich keine Beziehung aufstellen.

F) LITERATURVERZEICHNIS

1. AMABUDA, TH. T. JR., DOROTHY R. HOLLINGSWORTH, D'ESPO N. D., UPTON V., BONDY RH. K. : A study of the mechanism of the steroid-withdrawal-syndrome.
Evidence for integrity of the hypothalamic pituitary adrenal system.
J. Clin. End. and Met. 20, 339 (1960)
2. ANTONIADES H. N., PENNEL R. B., SLAUNWHITE W. R. Jr., SANDBERG A. A. : Binding and distribution of intravenously injected C^{14} -steroids and their metabolites in human plasma.
J. Biol. Chem. 229, 1071 (1957)
3. ZENNHOOLD H. E., KYLIN and ST. RASZNYAR in: Die Eiweißkörper des Blutplasmas.
Dresden und Leipzig (1938)
4. BISCHOFF F. and KATHERMANN V. : Solubility of Estrone in biologic systems.
Fed. proc. 11, 188 (1952)
5. BISCHOFF F. and PILHORN H. R. : State and distribution of steroid hormones in biologic systems. Solubilities of testosterone, progesterone and -estradiol in aqueous, salt and protein solution and in serum.
J. Biol. Chem. 174, 663 (1948)
6. BISCHOFF and STAUFFER R. D. : Orientation of circulating human estrogens by albumin.
Am. J. Physiol. 191, 313 (1957)
7. MOLLIE BOTH, P. F. DIXON, C. H. GRAY, J. M. GREENAWAY and N. J. HOLNESS: Protein binding of Cortisol in health and pregnancy.
J. Endocrin. 23, 25 (1961)
8. JAMES T. BRADBURY and TH. H. KENT: Protein hindrance of pregnanediol recovery.
Endocrinology 60, 162 (1956)
9. BUSH J. E. : The physiocochemical state of cortisol in blood.
Ciba Found. Coll. Endocr. 11, 263 Boston (1957)
10. CHEN S. S. R., MILLS L. H. and BARTTER F. C. : A simple ultrafiltration method for determining of non protein bound steroids.
Fourth International Biochemical Congress Wien (1958)
11. CHEN S., MILLS L. H. and BARTTER F. C. : Ultrafiltration studies of steroid protein binding.
J. Endocr. 23, 129 (1961)

12. CHRISTY N. P. , WALLACE E. Z. , GORDON W. E. Z. and JAILER J. W. : On the rate of hydrocortisone-clearance from plasma in pregnant women and in patients with Laennec's Cirrhosis.
J. Clin. Invest. 38, 299 (1959)
13. CLAYTON B. E. : The response of the hypophysectomized guinea pigs to ACTH with and without previous treatment with estradiol.
J. Endocrinol. 17, 1 (1958)
14. COHEN M. , STIEFEL M. , REDDY and LAIDLAW J. C. : The secretion and disposition of Cortisol during pregnancy.
J. Clin. Endocr. 18, 1076 (1958)
15. DAUGHADAY W. H. , RITA BREMER and CAROLYN HARTNETT COLLINS:
Binding of corticosteroids by plasma proteins.
I. Dialysis Equilibrium and Renal Clearance Studies:
J. Clin. Invest. 235, 1428 (1956)
16. DAUGHADAY W. H. and BREMER R. : The association of 17-OH-corticosteroids and 17-OH-glucuronides with plasma proteins and the mechanism of corticosteroid excretion.
J. Lab. Clin. Med. 46, 807 (1955)
17. DAUGHADAY W. H. : Evidence for two corticosteroid binding systems in human plasma.
J. Lab. Clin. Med. 48, 799 (1956)
18. DAUGHADAY W. H. : Binding of corticosteroids by plasma proteins: II. Paper-electrophoresis and equilibrium paperelectrophoresis.
J. Clin. Invest. 35, 1434 (1956)
19. DAUGHADAY W. H. : Corticosteroid binding by a plasma- γ -Globulin.
J. Clin. Invest. 36, 881 (1957)
20. DAUGHADAY W. H. and KOZAK I. : Binding of corticosteroids by plasma: IV The electrophoretic demonstration of the corticosteroid binding Globulin.
J. Clin. Invest. 37, 519 (1958)
21. DAUGHADAY W. and KOZAK I. : Binding of corticosteroids by plasma proteins III. The binding of corticosteroid and related hormones by human plasma and plasma protein fractions as measured by equilibrium dialysis.
J. Invest. 37, 511 (1958)
22. DAUGHADAY W. H. : Binding of corticosteroids by plasma proteins V. Corticosteroid binding Globulin activity in normal human beings and in certain disease states.
A. M. A. Archives of Internal Medicine 101, 286 (1958)

23. DAUGHADAY W. H. , KOZAK I. and BIEDERMANN O. : Corticosteroid binding globulin activity in body fluids and in fetal and maternal plasma. *J. Clin. Invest.* 38, 998 (1959)
24. DAUGHADAY W. H. : Steroid Protein Interactions. *Physiol. Rev.* 39, 885 (1959)
25. DAUGHADAY W. H. and MARIZ I. K. : Binding of steroid hormones by plasma proteins in; *Biological Activities of Steroids in Relation to Cancer* p. 61 (1960)
26. DAUGHADAY W. H. , HOLLOSZY J. , MARIZ KOZAK IDA: Binding of corticosteroids by plasma proteins; VI The binding of cortisol and aldosterone by corticosteroid binding globulin and by the estrogen-induced binding system of plasma. *The J. of End. and Met.* 21, 53 (1961)
27. DAUGHADAY W. H. and MARIZ I. KOZAK; Corticosteroid Binding Globulin. Its Properties and Quantitation, *Metabolism* 10, 936 (1961)
28. DAUGHADAY W. H. , ADLER R. E. , KOZAK I. M. and RASINSKI D. C. : Measurement of the binding capacity of CBG in plasma. *J. Clin. End. and Met.* 22, 704 (1962)
29. DAVIDSON E. T. , DE VENUTO F. and WESTPHAL U. : Steroid-Protein Interactions IX: Interaction of aldosterone with human serum proteins in competition with spirolactones and other steroids. *End.* 71, 893 (1962)
30. DOE R. P. , ZIMMERMANN H. H. , FLINK E. B. and ULSTROM R. A. : Significance of the concentration of non-protein-bound plasma cortisol in normal subjects, Cushing's syndrome, pregnancy and during estrogen therapy. *J. Clin. End and Met.* 20, 1484 (1960)
31. DOE R. P. , VENNER J. A. and FLINK E. B. : Diurnal variation of 17-Hydroxycorticosteroids, sodium, potassium, magnesium and creatinine in normal subjects and cases of treated adrenal insufficiency and Cushing's syndrome. *J. Clin. End.* 20, 253 (1960)
32. DOWLING J. T. , FREINKEL N. and INGBAR S. H. : Thyroxin-binding by sera of pregnant women, newborn infants and women with spontaneous abortion. *J. Clin. End.* 35, 116 (1956)
33. DOWLING J. T. , FREINKEL N. and INGBAR S. H. : Thyroxin-binding by sera of pregnant women. *J. Clin. End.* 16, 280 (1951)

34. KIRSTEN EIK-NES, JOHN A. SCHELLMANN, RUFUS LUMRY and LEO J. SAMUELS: The binding of steroids to protein; I. Solubility determinations, *J. Biol. Chem.* 206, 411 (1954)
35. ENGSTROM W. W. and MARKARDT B. : Influence of estrogen on thyroid function.
J. Clin. End. 14, 215 (1954)
36. R. V. FARESE and J. E. PLAGER: The in vitro redblood cell uptake of C^{14} -Cortisol. studies of plasma protein binding in normal and abnormal states
J. Clin. Invest. 41, 53 (1962)
37. FELBER J. P. , REDDY W. J. , SELENKOW H. A. and THORN G. W. : Adrenocortical response to the 48-hour ACTH-test in myxedema and hyperthyroidism.
J. Clin. End. 19, 895 (1959)
38. FORSHAM P. H. and THORN G. W. Textbook of Endocrinology p. 231 a. 232
ED. R. H. WILLIAMS, London 1955, SAUNDERS
39. GEMZELL C. A. : Variations in plasma levels of 17-hydroxycorticosteroids in mother and infant following parturition.
Acta Endocr. 17, 100 (1959)
40. GEMZELL C. A. : Blood levels of 17-hydroxycorticosteroids in normal pregnancy.
J. Clin. End. 13, 898 (1953)
41. GRASSMANN W. and HANNIG K. : *Z. physiol. Chem.* 290, 1 (1952)
42. GULYASSY P. , DE VENUTO F. , WESTPHAL U. : Effect of the route of injection on distribution and excretion of 4- C^{14} -Cortisol in the rat.
Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 98, 711 (1958)
43. KARL H. J. : Untersuchungen über die Transportform von Prednisolon im Blut nach exogener Zufuhr beim Menschen.
Verhandlungen der Dt. Ges. f. innere Medizin 66, Kongr. 1960 S. 717
44. LAYNE D. S. , LITTLE J. , MEYER C. J. , TAIT J. T. and TAIT S. A. S. : The turnover rate, distribution and plasma binding of aldosterone in pregnancy.
Proc. 43 d. meeting of endocrin. society, New York 1961, p. 16
45. CLAUDE MEYER, D. S. LAYNE, J. E. TAIT und G. PINCUS: The binding of aldosterone to plasma proteins in normal, pregnant and steroid treated women
J. Clin. Invest. 40, 1663 (1961)

46. MIGEON C. J. , BERTRAND J. and WALLACE P. E. : Physiological disposition of C^{14} -cortisol during late pregnancy.
J. Clin. Invest. 36, 1350 (1957)
47. MIGEON C. J. , BERTRAND J. , WALLACE P. E. , STEINFELD R. and PRYSTOWSKI H. ; Metabolism and placenta transmission of cortisol during pregnancy near term.
Ciba Foundation Colloquia on Endocrinology. Boston, 11, 338 (1957)
48. MIGEON C. J. , LAWRENCE B. , BERTRAND J. and HOLMANN G. H. ; In vivo distribution of some 17-hydroxycorticosteroids between plasma and red blood cells of man.
J. Clin. End. 19, 141 (1959)
49. CLAUDE J. MIGEON, O. L. LESCURE and H. M. ANTONIADES; Further in vitro studies over 16 - C^{14} -estrone distribution between plasma protein fractions and red blood cells of man.
Bulletin of John's Hopkins Hospital 106, 317 (1960)
50. MIGEON C. J. , PRYSTOWSKI H. , GRUMBACH M. and BYRON M. C. : Placental passage of 17-hydroxycorticosteroids in comparison of the levels in maternal and fetal plasma and effect of ACTH and hydrocortisone administration.
J. Clin. Invest. 35, 488 (1956)
51. MILLS J. H. , BARTTER F. C. ; Plasma hydrocortisone levels during cortisone administration.
Lancet 2, 941 (1958)
52. MILLS J. H. , CHEN P. S. and BARTTER F. C. ; The protein binding of steroids as studied by ultrafiltration (abstract).
J. Endocr. 18, 3 (1959)
53. MILLS J. H. , SCHEDL H. P. , CHEN P. S. and BARTTER F. C. : The effect of estrogen administration on the metabolism and protein binding of hydrocortisone.
J. Clin. End. 20, 515 (1960)
54. P. DE MOOR, R. DECKX, J. RAUS and C. DENEFF; About the possible influence of transcortin on the catabolism of cortisol in the liver.
Metab. Clin. Exp. 12, 592 (1963)
55. P. DE MOOR, K. HEIRWEGH, J. F. HEREMANS and M. DECLERCK-RASKIN; Protein binding of corticoids studied by gel filtration.
J. Clin. Invest. 41, 810 (1964)

56. DE MOOR P., STEENO D. and DECKX R. : Factors affecting the binding of cortisol by transcortin.
Acta End. 44, 107 (1958)
57. B. P. MURPHY, W. ENGELBERG, Ch. J. PATTEE: A simple method for the determination of plasma corticoids.
Clin. End. 25, 291 (1963)
58. B. P. MURPHY and C. J. PATTEE: A study of the binding capacity of the cortisol binding globulin in plasma.
J. Clin. End. 23, 459 (1963)
59. I. H. NELSON, H. TANREY, G. MESHMANN, FUSHEV V. W., L. D. WILSON: Potentiation of the biologic effect of administered cortisol by estrogen treatment.
J. Clin. End. 261 (1963)
60. PETERSON R. E. : The influence of the thyroid on adrenal cortical function.
J. Clin. Invest. 37, 736 (1958)
61. PETERSON R. E. : The miscible pool and turnover rate of adrenocortical steroids in man.
Rec. Progr. Horm. Res. 15, 231 (1959)
62. PETERSON R. E., NOKES G. D., CHEN P. S., BLACK R. L. : Estrogens and adrenocortical function in man.
J. Clin. End. 20, 495 (1960)
63. PETERSON R. E., WYNGAARDEN J. B., GUERRA S. L., BRODIE B. B. and BONIN: The physiological disposition and metabolic fate of hydrocortisone in man.
J. Clin. Invest. 34, 1779 (1955)
64. PLAGER J. E., CUSHMAN P. JR. and CHASE A. E. : The plasma cortisol response to ACTH in "idiopathic hirsutism".
J. Clin. Invest. 40, 1315 (1961)
65. PLAGER J. E., KNOPP R., SLAUNWHITE W. R. JR. and SANDBERG A. A. : Cortisol binding by dog plasma.
Endocr. 73, 353 (1963)
66. ROBBINS J. and RALL J. E. : The interaction of thyroid hormones and protein in biological fluid.
Rec. Progr. Horm. Res. 13, 161 (1957)
67. SAMUELS L., BREWITT, EIK-NES K., TYLER F. H. and DOMINGUEZ O. V. : Extra-adrenal factors affecting the levels of 17-hydroxycorticosteroids in plasma.
Ciba Found. Coll. Endocr. 11, 208 (1957)

68. SANDBERG A. A. and SLAUNWHITE W. R. JR. : I. Studies on phenolic steroids in human subjects.
II. Metabolic fate and hepato-biliary-renal circulation of C^{14} -Estrone and C^{14} -Estradiol in woman.
J. Clin. Invest. 36, 1206 (1957)
69. SANDBERG A. A. and SLAUNWHITE W. R. JR. and ANTONIADES H. N. : The binding of steroids and steroid conjugates to human plasma proteins.
Rec. Progr. Horm. Res. 13, 209 (1957)
70. SANDBERG A. A. and SLAUNWHITE W. R. : Transcortin: a corticosteroid binding protein of plasma.
II. Levels in various conditions and the effect of estrogens.
J. Clin. Invest. 38, 1296 (1960)
71. SANDBERG A. A. and SLAUNWHITE W. R. JR. and A. C. CARTER: Transcortin: A corticosteroid binding protein of plasma. III. The effect of various steroids
J. Clin. Invest. 38, 1914 (1960)
72. SANDBERG A. A. , SLAUNWHITE W. R. and ANTONIADES H. N. : Effect of time and steroid concentration on binding of C^{14} -estrogens in human plasma.
Y. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 106, 831 (1961)
73. SCHEDL H. P. , CHEN S. P. JR. , GREEN G. and REDD D. : The renal clearance of plasma cortisol.
J. Clin. End. 19, 1223 (1959)
74. SCHELLMANN J. A. , LUMRY R. and SAMUELS L. T. : The binding of an-charged molecules to protein.
II. Testosterone and bovine serum albumin.
J. Am. Chem. Soc. 76, 2808 (1954)
75. J. A. SCHELLMANN, R. LUMRY and SAMUELS L. T. : The binding of steroids to protein: I. Solubility determinations.
J. Biol. Chem. 206, 411
76. S. ROBERTS and CLARA SZEGO: The nature of circulating estrogen: Lipo-protein-bound estrogen in human plasma.
End. 39, 183 (1946)
77. U. S. SEAL and R. P. DOE: Cortico-steroid binding globulin: I. Isolation from plasma of diethylstilbestrol-treated men.
J. Biol. Chem. 237, 3136 (1962)
78. U. S. SEAL and R. P. DOE: Cortico-steroid binding globulin: Species distributions and small-scale purification.
End. 73, 371 (1963)

79. SIMMER H. und SCARLANO N. : Der Einfluss zugesetzten menschlichen Albumins bei der Bestimmung der Ketosteroide im Urin Schwangerer.
Klin. Wo. 37, 975 (1959)
80. SLAUNWHITE W. R. JR. and SANDBERG A. A. : The binding of urinary conjugated steroids to serum albumin: A new method of extraction.
End. 62, 283 (1958)
81. SLAUNWHITE W. R. JR. , and SANDBERG A. A. : Transcortin: A corticosteroid binding protein of plasma.
J. Clin. Invest. 38, 384 (1959)
82. SLAUNWHITE W. R. JR. , ROSENTHAL H. and SANDBERG A. A. : Interactions of steroids with human plasma proteins.
Arch. Biochem. Biophys. 100, 486 (1961)
83. SMITH G. , VAN S. and O. W. SMITH: Internal secretions and toxemia of late pregnancy.
Physiol. Rev. 28, 1 (1948)
84. SZEGO C. M. and ROBERTS S. : Hepatic intervention in the binding of estrogens to rat serum albumin in vitro.
J. Biol. Chem. 221, 619
85. TALLIA FERRO I. , COBEY F. and LEONE L. : Effect of diethylstilbestrol on plasma 17-hydroxy-corticosteroid levels in humans.
Proc. Soc. Exp. Biol. 92, 742 (1956)
86. VIRGINIA UPTON and P. K. BONDY: The binding of cortisol by plasma proteins.
Arch. Biochem. Biophys. 78, 197 (1958)
87. DE VENUTO F. , KELLEHER D. C. , WESTPHAL U. : Interaction between corticosteroids and fractions of rat liver and muscle cells as determined by equilibrium fractionation and equilibrium dialysis.
Biochem. Biophys. Acta 63, 434 (1962)
88. ELLEANOR Z. WALLACE and ANNE C. CARTER: Studies of the mechanism fo the plasma 17-hydroxy-corticosteroid-elevation induced in men by estrogens.
J. Clin. Invest. 39, 601 (1960)
89. WALLACE E. Z. , SILBERBERG H. I. and CARTER A. C. : Effect of ethinyl-estradiol on plasma 17-hydroxy-cortisosteroids, ACTH-responsiveness and hydrocortisone-clearance in man.
Proc. Soc. Exp. Biol. 95, 805 (1957)

90. I. C. WARREN and H. A. SALHANICK: Measurement of cortisol binding capacity in human plasma.
Proc. Soc. Exp. Biol. 95, 805 (1957)
91. WEISSBECKER: Neue Erkenntnisse über die Pathogenese der Cushing-Krankheit.
Med. Klin. 58, 1253 (1963)
92. WEST C. D. TYLER F. H. and BROWN H. J. : The effect of intravenous testosterone on nitrogen and electrolyte metabolism.
J. Clin. End. 11, 933 (1951)
93. WESTPHAL U. , FIRSCHEIN H. E. and PEARCE F. : Binding of hydrocortisone-4- C^{14} and progesterone-4- C^{14} to serum albumin, demonstrated by paper electrophoresis.
Science 121, 601 (1955)
94. WESTPHAL U. , FIRSCHEIN H. E. and PEARCE F. : Transport of cortisol-4- C^{14} and progesterone-4- C^{14} by serum proteins as demonstrated by paper electrophoresis and paper chromatography.
Am. J. Physiol. 185, 54 (1956)
95. WESTPHAL U. : Steroid protein interactions III. Spectrophotometric demonstration of interaction between proteins and progesterone, desoxycorticosterone and cortisol.
Arch. Biochem. 66, 71 (1957)
96. WESTPHAL U. and ASHLEY D. : Spectrophotometric observations on interactions between proteins and Δ 4-3-ketosteroids.
Fed. Proc. 16, 269 (1957)
97. U. WESTPHAL and B. D. ASHLEY: Steroid protein interactions VIII. Structure of Δ 4-3-Ketosteroids in relation to spectrophotometric interactions with human serum albumin.
J. Biol. Chem. 237, 2763 (1962)
98. U. WESTPHAL: Interactions between steroids and proteins. Mechanism of action of steroid hormones p. 33
Pergamon-Press, New York (1961)
99. U. WESTPHAL, B. D. ASHLEY and GEORGE L. SELDEN: Steroidprotein interactions of progesterone and corticosteroids with human plasma determined by multiple equilibrium dialysis.
Arch. Biochem. Biophys. 92, 441 (1961)

100. U. WESTPHAL, W. C. WILLIAMS and B. D. ASHLEY: Increased corticosteroid binding (Transcortin) activity in adrenalectomized and hypophysectomized rats.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 109, 926 (1962)
101. U. WESTPHAL, W. C. WILLIAMS, B. D. ASHLEY and FRANK DE VENUTO:
Proteinbindung der Corticosteroide im Serum adrenal- und hypophysektomierter Ratten.
X. Mitteilung Hoppe Seyler's Zeitschrift für physiol. Chemie 332, 54 (1963)

LEBENS LAUF

Am 12. 5. 1946 wurde ich als Sohn des praktischen Arztes Peter Eberhard von Rottkay und seiner Ehefrau Ruth geb. Albrecht in Breslau geboren. Meine ersten fünf Lebensjahre verbrachte ich mit meiner Mutter in Schlesiersee Kreis Glogau, von wo wir 1946 fliehen mußten. Wir gelangten nach Mengkofen, Kreis Dingolfing in Niederbayern, wo sich mein Vater 1946 nach der Rückkehr aus Kriegsgefangenschaft wieder als praktischer Arzt niederließ. Dort besuchte ich auch von 1946 - 1950 die Volksschule, von der ich an das Humanistische Gymnasium in Straubing übertrat. 1958 machte ich das Abitur und immatrikulierte mich an der Medizinischen Fakultät in München. Mit Ausnahme des Wintersemesters 1959/60 in Innsbruck blieb ich während meiner ganzen Studienzeit in München, machte dort im Sommer 1959 das Vorphysikum, im Februar 1961 das Physikum und im Sommer 1964 das Staatsexamen. Während meines Studiums hatte ich dank der Tätigkeit des ASTA Gelegenheit zu einer Famulatur in Spanien. Nach dem Staatsexamen war ich sieben Monate auf der Internen Abteilung des Kreiskrankenhauses Mallersdorf, Leitung dr. Strieder tätig und bin nun seit Mai 1965 im Schwesternkrankenhaus St. Maria, Mallersdorf, Leitung Chefarzt Dr. Pickl, auf einer chirurgischen Abteilung.

Mit vorliegender Dissertation ersuche ich um Zulassung zur Promotion.

